

Eficiencia de cultivares estaminados en la polinización de kiwi (*Actinidia deliciosa*, cv. Hayward) en el sudeste bonaerense

Marcellán, Olga^{1,2}; Carlos Godoy¹; Adrián De Brito¹

¹Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata. Ruta 226 km 73,5 (C.C. 256) Balcarce, Buenos Aires, Argentina; ²marcellan.olga@inta.gob.ar

Marcellán, Olga; Carlos Godoy; Adrián De Brito (2018) Eficiencia de cultivares estaminados en la polinización de kiwi (*Actinidia deliciosa*, cv. Hayward) en el sudeste bonaerense. Rev. Fac. Agron. Vol 117 (1): 147-156.

La polinización es una de las etapas más críticas del cultivo de kiwi, *Actinidia deliciosa* (A. Chev.) Liang & Ferguson, tratándose de una especie dioica. En Argentina alrededor del 70% de la producción está concentrada en el sudeste bonaerense, zona agroecológica óptima para este cultivo. En el presente trabajo se evaluó el comportamiento de tres cultivares estaminados difundidos en la zona (Chieftain, M56 y M52) en relación al grado de superposición de la floración con el cultivar femenino Hayward durante tres años consecutivos, la cantidad de polen viable producido y la capacidad del polen de mantener su viabilidad a lo largo del almacenamiento. Se consideraron tres estimadores de la viabilidad del polen: Tinción, Germinación *in vitro* y Producción de semilla, en períodos de almacenamiento del polen de 1 y 4 semanas a 4°C, y de 1 y 12 meses a -20°C. El grado de sincronía de la floración varió según el año, tendiendo a anticiparse la floración de los cultivares estaminados, los cuales difirieron en la cantidad y calidad del polen producido. Chieftain produjo una cantidad de polen sustancialmente superior al resto de los cultivares estaminados evaluados. La viabilidad del polen fresco fue superior al 90% y se mantuvo alta, con valores cercanos al 80% después de 1 mes a 4°C y 12 meses a -20°C. El polen de Chieftain perdió viabilidad a una tasa mayor que la de los otros polinizadores. Los frutos obtenidos a partir de polen, tanto fresco como conservado, de los tres cultivares estaminados alcanzaron el tamaño comercial.

Palabras clave: dioecia; sincronía floral; viabilidad polínica; producción de semilla.

Marcellán, Olga; Carlos Godoy; Adrián De Brito (2018) Efficiency of staminate cultivars in the pollination of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*, cv Hayward) in Southeastern Buenos Aires. Rev. Fac. Agron. Vol 117 (1): 147-156.

Pollination is one of the most critical stages of kiwifruit, *Actinidia deliciosa* (A. Chev.) Liang & Ferguson, being a dioecious species. In Argentina approximately 70% of kiwifruit production is concentrated in Southeastern Buenos Aires, where agroecological conditions are optimal for this fruit crop. In the present study, behavior of the more spread out staminate cultivars (Chieftain, M56 and M52) was evaluated relative to flowering overlap with the cultivar female (Hayward) for three consecutive seasons. Pollen viability was also studied based on staining, *in vitro* germination and seed set in periods of 1 and 4 weeks stored at 4°C, and 1 and 12 months at -20°C. Degree of flowering synchrony varied according to the season, with the tendency to anticipate the flowering of the staminate cultivars, which varied in the quantity and quality of the pollen produced. Chieftain produced more pollen than the rest of staminate cultivars. Viability of fresh pollen was higher than 90% and remained high, with values close to 80%, after 1 month at 4°C and 12 months at -20°C. Chieftain pollen lost viability at a higher rate than the pollen of the other two staminate cultivars. Fruits obtained from pollinations with both fresh and preserved pollen of the three staminate cultivars reached commercial size.

Keywords: dioecy; floral synchrony; pollen viability; seed set.

Recibido: 09/05/2017

Aceptado: 07/05/2018

Disponible on line: 10/09/2018

ISSN 0041-8676 - ISSN (on line) 1669-9513, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP, Argentina

INTRODUCCIÓN

El kiwi, *Actinidia deliciosa* (A. Chev.) Liang & Ferguson, es una especie nativa del sudeste asiático (Ferguson, 1999). Produce frutos con pulpa color verde brillante que contienen abundantes componentes funcionales para la salud tales como vitamina C, polifenoles y actinidina (Atkinson & Macrae, 2007; D'Evoli et al., 2015).

Los principales países productores de kiwi son Italia, Nueva Zelanda, China y Chile (Atkinson & Macrae, 2007). En nuestro país, la zona agroecológicamente óptima para el cultivo de kiwi corresponde al sudeste bonaerense. Las primeras plantaciones se llevaron a cabo en Macedo, partido de General Madariaga, hacia fines de la década del '80. La superficie cultivada tuvo un incremento importante a partir del 2004 (Godoy, 2007) representando actualmente el 70% de la producción nacional (Cámara de productores de kiwi, 2017).

Una de las etapas más críticas del cultivo de kiwi es la polinización. Es una especie dioica con plantas pistiladas cuyos ovarios poseen hasta 1500 óvulos y plantas estaminadas cuya producción polínica debe ser abundante y de alta calidad a fin de asegurar la fecundación del mayor número posible de óvulos para producir frutos con alrededor de 1.000 semillas, de elevado valor comercial (Hopping, 1990).

Los cultivares que se comercializan a nivel mundial están constituidos por plantas pistiladas o plantas estaminadas según se trate de cultivares femeninos o masculinos respectivamente. En todos los países, excepto en China, se cultiva casi con exclusividad un mismo cultivar femenino. Este cultivar, Hayward, es preferido por el buen tamaño, sabor y excepcional capacidad de conservación de sus frutos (Ferguson et al., 1997). Contrariamente, se cultivan varios cultivares masculinos o estaminados, entre los que se destacan los desarrollados en Nueva Zelanda, tanto los tradicionales, como Matua y Tomuri -que en maorí significan "padre" y "floración tardía", respectivamente- como los seleccionados con posterioridad, entre los que se incluyen los que conforman la serie M, codificados como M51, M52, M54 y M56 (Hopping, 1990), capaces de producir frutos con más semillas (Testolin et al., 1997), y el cultivar Chieftain, caracterizado bajo las condiciones neozelandesas por presentar una consistente superposición de la floración con el cultivar Hayward, buena calidad de polen, y una profusa y extendida floración (Ferguson et al., 1997). Los cultivares estaminados difundidos en las plantaciones comerciales más recientes del sudeste bonaerense son Chieftain, M56 y M52, que difieren en el número de flores, independientemente de la edad de la planta, el manejo y las condiciones ambientales (Hopping, 1990). En base a esto, los cultivares estaminados se seleccionan por (a) sincronía en la floración con el cultivar femenino, (b) densidad de flores que producirán polen/cm de brote, (c) viabilidad del polen y (d) capacidad de producir frutos de tamaño comercial (Testolin et al., 1997).

La sincronización de la floración está relacionada con los cultivares estaminados empleados (González et al., 1994), y con las condiciones climáticas propias de la región (Cheng et al., 2006). La exposición al frío es el

factor determinante en la ruptura de la dormición de las yemas. Con posterioridad, para completar las sucesivas etapas fenológicas, se requiere la acumulación de temperaturas superiores a un valor umbral (temperatura base) (Gariglio et al., 2007). El cultivar femenino Hayward presenta un período de floración que abarca desde 10 hasta 18 días dependiendo de las condiciones ambientales. Los óvulos de cada flor se mantienen viables hasta 7 días después de la antesis (González et al., 1995), cuando comienza la senescencia del estilo (Hopping, 1990). Sin embargo, el período efectivo de polinización se ve acotado por la receptividad del estigma, que es máxima hasta 4 días después de antesis y nula luego de 7 días (González et al., 1995; Ferradás et al., 2014). En los cultivares estaminados, la liberación del polen comienza con la apertura de pétalos y continúa durante 1 o 2 días (Hopping, 1990). De acuerdo a Cheng et al. (2006), las condiciones ambientales afectan el comportamiento reproductivo de los cultivares estaminados en mayor medida que lo que lo hacen al cultivar femenino Hayward, por lo que dichos cultivares se deberían evaluar y seleccionar bajo las condiciones locales de cultivo y durante más de un año para tener resultados confiables. La sincronización de la floración es importante cuando se considera la polinización natural, ya sea anemófila (Costa et al., 1993) o entomófila a través de la abeja doméstica (Vaissiere et al., 1996) o de otros insectos, como el abejorro (Godoy et al., 2012).

En la selección de un buen polinizador se considera, además, la capacidad de producir abundante polen y que ese polen tenga alta viabilidad. El término viabilidad del polen hace referencia a la capacidad de los granos de polen para germinar sobre el estigma (Dafni & Firmage, 2000). Hay diferentes métodos para estimar la viabilidad del polen, algunos de ellos son indirectos, basados en la tinción con colorantes específicos y detección de la presencia o ausencia de protoplasto vivo, mientras que otros métodos como la germinación *in vitro*, conocida también con el nombre de germinabilidad (Stanley & Linskens, 1974), revelan el estado de las reservas, la condición de las membranas y la tasa de conversión de las reservas del polen (Heslop-Harrison, 1979). Ambas metodologías permiten realizar estimaciones rápidas y en cualquier momento del año. Contrariamente, la fertilización y producción de semilla es una metodología que, si bien provee una muy buena estimación de la viabilidad, solo puede realizarse en el momento de la floración del cultivo y requiere tiempo para evaluar la producción de semilla (Dafni & Firmage, 2000).

La viabilidad del polen de kiwi depende (a) del genotipo polinizador y (b) del manejo de la plantación. Así, un mal manejo, como demasiado sombreo o inadecuada nutrición, provoca que la mayoría del polen presente anomalías en los tubos polínicos (Hopping, 1990). Otro aspecto a tener en cuenta es la longevidad del polen, es decir el período de tiempo durante el cual el polen puede ser almacenado sin perder la capacidad de germinar sobre el estigma. En los casos en que la viabilidad del polen pueda ser mantenida en el tiempo, se puede recurrir a la polinización artificial usando polen almacenado en condiciones controladas de temperatura y humedad. Esto es importante cuando ocurre un

desfasaje en la floración de las plantas femeninas y masculinas e incluso para exportar polen a los países del Hemisferio Norte que producen en contra-estación, como Italia. En este caso, la viabilidad dependerá también del manejo del polen desde su extracción hasta su aplicación, las condiciones de almacenamiento y la capacidad intrínseca del polen de cada genotipo para mantener la viabilidad en el largo plazo.

En lo que respecta a la sanidad, el polen, básicamente, debe estar libre de *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (PSA), bacteria detectada en el partido de General Pueyrredón, sudeste de la provincia de Buenos Aires (Fernández et al., 2015) y transmisible a través del polen (Tontou et al., 2014). Con respecto a la pureza, ésta depende del método de extracción del polen (King & Ferguson, 1991), por lo que es importante en el caso de que se recurra a la polinización artificial. Resumiendo, la viabilidad del polen, la sanidad y la pureza definen en conjunto la calidad del polen de kiwi.

En el presente trabajo se evaluó el comportamiento de distintos cultivares estaminados en relación al grado de superposición de la floración con el cultivar femenino Hayward, la cantidad y calidad de polen producido, y la capacidad del polen de mantener su viabilidad durante su almacenamiento.

METODOLOGÍA

Se evaluaron los cultivares estaminados M52, M56 y Chieftain, empleados como polinizadores del cv. Hayward en una plantación de kiwi de carácter experimental, perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrarias, U.N.M.d.P. (37° 45' 55" S 58° 18' 19" W). Las plantas se encontraban protegidas por mallas rompevientos y antigranizo, se empleó riego por goteo y fertirrigación. Los cultivares estaminados se condujeron en cordón central dentro del sistema GDC (Geneva Double Curtain), realizándose la poda anual invernal y podas en verde.

Para cada cultivar estaminado se evaluó:

La evolución de la floración y su sincronización con el cv. Hayward

Se realizaron observaciones periódicas, cada dos días, del estado de las flores dispuestas en 30 cm de cordón en cinco plantas por cultivar. Se registró el porcentaje de flores abiertas en cada una de las fechas de observación.

Las determinaciones se realizaron en los cultivares estaminados M56 y Chieftain, y el cultivar femenino Hayward durante tres temporadas consecutivas: 2011, 2012 y 2013, y se analizó la sincronización de la floración entre los cultivares estaminados y el cv. Hayward a través de gráficos de frecuencias.

La producción de polen viable

Se calculó la cantidad de polen germinable producido por los cultivares estaminados M52, M56 y Chieftain, de acuerdo a la ecuación utilizada por González et al. (1994)

Peso polen viable = número de flores/racimo x número de racimos/cm cordón x peso polen/flor x porcentaje (%) germinación del polen

donde:

Número flores/racimo: se obtuvo por conteo del número de flores presentes en diez racimos

Número racimos/cm cordón: se obtuvo a partir del número de racimos presentes en 30 cm de cordón de cinco plantas

Peso polen/flor: se obtuvo a partir del peso del polen, extraído de diez flores en proceso de apertura floral, obtenido con balanza analítica

Porcentaje de germinación del polen: se obtuvo a través de la germinación *in vitro* del polen como se detalla en el punto siguiente.

La viabilidad del polen

Se estimó la viabilidad por medio de tres métodos:

(a) Tinción:

Se empleó el método de tinción de Peterson et al. (2010). Para la evaluación del polen de cada cultivar se consideraron dos repeticiones y se observaron 200 granos de polen/repeticición en un microscopio óptico.

(b) Germinación *in vitro* (GIV):

Se utilizó el sistema de la Gota Colgante (Stanley & Linskens, 1974), con el medio de germinación de Brewbaker & Kwack (1963) y una temperatura de 27°C por un período de cuatro horas (de Brito et al., 2013). Para la evaluación del polen de cada cultivar se observaron 200 granos de polen/repeticición en un microscopio óptico y se determinó el número de granos de polen que germinaron y desarrollaron tubos polínicos, con longitudes de al menos el diámetro del grano. Con esta técnica se consideró una repetición más que con la de Tinción, debido a que es usual que se registre mayor variabilidad entre repeticiones, la cual está relacionada con la formación de la gota (Stanley & Linskens, 1974).

(c) Producción de semilla:

En tres plantas del cultivar femenino Hayward se seleccionaron brotes fructíferos (laterales) indeterminados, de vigor medio, de acuerdo a Godoy et al. (2002). Los botones florales se cubrieron con sobres de papel a fin de evitar la contaminación con polen extraño. Se hicieron polinizaciones manuales controladas usando el polen fresco de cada uno de los tres cultivares estaminados, identificando cada cruzamiento con una cinta de color. Posteriormente, se raleó dejando tres frutos por brote. Los brotes se despuntaron a tres hojas después del último fruto. Los frutos se dejaron en la planta hasta alcanzar 8° Brix, habiendo superado ampliamente la instancia de madurez fisiológica (Godoy & Domé, 2013). Se cosecharon tres frutos de cada cruzamiento y para cada uno de ellos se determinó el número de semillas y el peso del fruto.

Mantenimiento de la viabilidad del polen en el tiempo bajo condiciones controladas de humedad y temperatura

En el momento en que se obtuvo polen de los tres cultivares para hacer las estimaciones de viabilidad en fresco, se extrajo una mayor cantidad de polen que se fraccionó en cuatro partes iguales dispuestas en cápsulas de gelatina contenidas a su vez en recipientes con sílica gel. Dos fracciones se guardaron en heladera a 4°C por períodos de una y cuatro semanas. Las otras dos fracciones restantes se guardaron en freezer a -

20°C por períodos de uno y doce meses. Al finalizar cada período de almacenamiento se estimó la viabilidad del polen a través de las técnicas de Tinción y Germinación *in vitro*, y en el caso del polen almacenado a -20°C durante un año también se estimó la viabilidad a través de la Producción de semilla, de la misma manera que se detalló en el punto anterior.

Los datos se analizaron usando el paquete estadístico R Core Team (2014). En primer término, se chequearon los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, y posteriormente se realizaron los análisis de la varianza y las pruebas de diferencias mínimas significativas (LSD).

RESULTADOS

Evolución de la floración de los cultivares estaminados y su sincronización con el cv. Hayward

Como se visualiza en la figura 1, solo en una de las temporadas (2013) se produjo un solapamiento completo de las curvas de floración de los cultivares Chieftain y M56 con el cultivar femenino Hayward. En las otras dos temporadas, la floración de los cultivares estaminados se anticipó con respecto a Hayward. A su vez, los cultivares Chieftain y M56 florecieron simultáneamente en todas las temporadas.

Producción de polen viable de los cultivares estaminados

Se detectaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en la producción de polen viable entre el cultivar Chieftain y los cultivares M56 y M52 (Tabla 1). El cultivar Chieftain produjo una cantidad de polen sustancialmente superior debido a una mayor densidad de la floración, producto de un mayor número de racimos por centímetro de cordón, mayor número de flores por racimo y sobre todo por una mayor cantidad de polen producido por cada flor (Tabla 1).

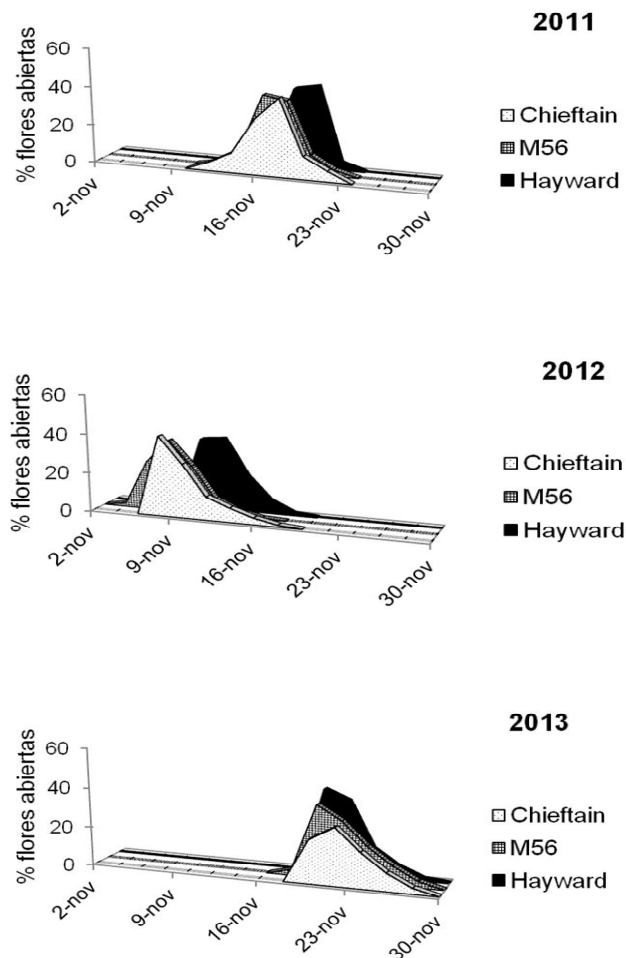


Figura 1. Curvas de la floración de tres cultivares de kiwi en tres temporadas consecutivas.

Tabla 1. Producción promedio de polen viable de los tres cultivares estaminados. Letras distintas difieren significativamente al 5%.

	Nº flores/ racimo	Nº racimos /cm	mg polen /flor	mg polen viable/cm
Chieftain	2,9 a	0,74 a	8,94 a	17,1 a
M56	1,8 b	0,45 b	3,84 b	2,9 b
M52	2,4 ab	0,30 c	3,72 b	2,5 b

Viabilidad del polen de los cultivares estaminados

La viabilidad del polen fue muy alta con valores promedios de 94 y 91,3% estimados a través de los métodos de tinción (Figura 2a) y GIV (Figura 2b) respectivamente. La viabilidad no difirió significativamente entre los cultivares estaminados (Tabla 2). La producción de semillas obtenidas a partir de la polinización del cultivar Hayward con los tres cultivares polinizadores fue muy buena en general (Figura 2c). No obstante, se detectaron diferencias significativas entre cultivares, destacándose los

polinizadores M56 y M52 que permitieron obtener alrededor de 1.000 semillas/fruto (Tabla 2).

Mantenimiento de la viabilidad del polen en el tiempo bajo condiciones controladas de humedad y temperatura

Los análisis de los datos de viabilidad del polen estimados a partir de Tinción y GIV no detectaron interacción significativa entre los cultivares y los períodos de almacenamiento, pero sí efectos principales (Tabla 3). La viabilidad fue significativamente diferente en los tres cultivares según las estimaciones por Tinción; mientras que de acuerdo a las estimaciones por GIV, las viabilidades del polen de los cultivares M56 y M52 no fueron diferentes entre sí pero difirieron de las del cultivar Chieftain (Tabla 3). Por otro lado, la viabilidad del polen varió significativamente a lo largo del almacenamiento (Tabla 3). De acuerdo a la estimación de la viabilidad por GIV, el polen no perdió viabilidad durante el período de almacenamiento a 4°C (Tabla 3, Figura 3) pero sí lo hizo después de haber estado almacenado a -20°C durante un año (Tabla 3, Figura 4). No obstante esta pérdida de viabilidad, el porcentaje de polen viable después de un año fue cercano al 80% (Tabla 3).

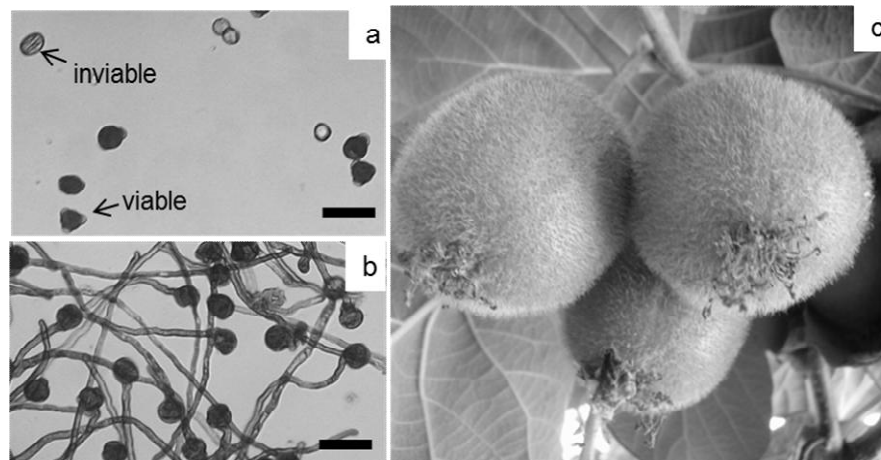


Figura 2. Viabilidad del polen estimada por: (a) la técnica de tinción, (b) germinación in vitro y (c) producción de semilla/fruto (Barra: 100 µm)

Tabla 2. Viabilidad del polen fresco de tres cultivares estaminados estimada por los métodos de Tinción, Germinación in vitro (GIV), y producción de semillas del cultivar Hayward. ¹*: Significativo, NS: no significativo, valor de Probabilidad en paréntesis; ² Letras distintas difieren significativamente al 5%.

	Tinción	GIV	Producción de semillas
Significancia ¹ de la fuente de variación Cultivar	NS (0,051)	NS (0,273)	* (0,020)
Coefficiente de Variación (%)	3,3	3,4	15
Medias ² y desvíos por cultivar	(%)	(%)	(número/fruto)
M56	97 ± 2,12	93 ± 4	989 ± 68 ab
M52	95 ± 1,41	92 ± 2	1106 ± 57 a
Chieftain	90 ± 0,7	89 ± 2	822 ± 120 b

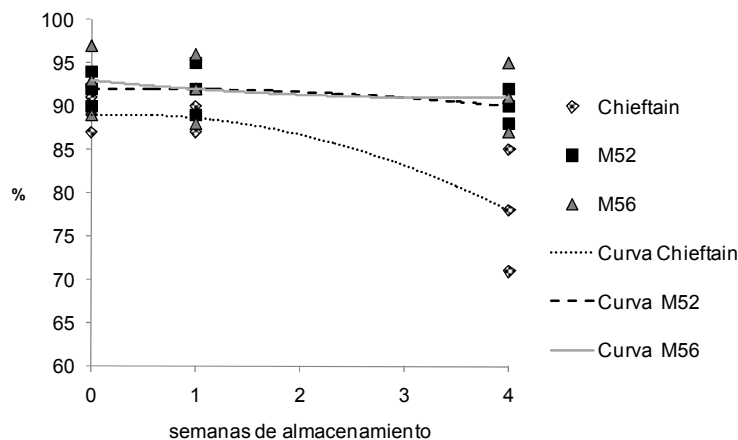


Figura 3. Curvas de viabilidad del polen almacenado a 4°C, estimada por germinación in vitro, en los tres cultivares estaminados.

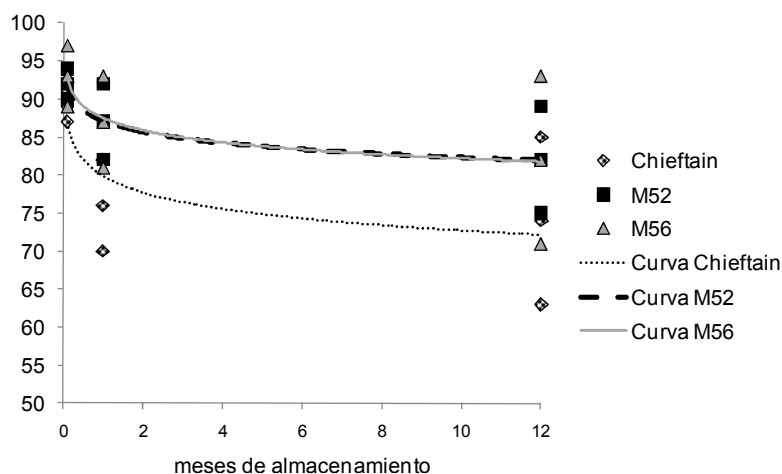


Figura 4. Curvas de viabilidad del polen almacenado a -20°C, estimada por germinación in vitro, en los tres cultivares estaminados.

Tabla 3. Viabilidad del polen conservado de los tres cultivares estaminados estimada por los métodos de Tinción y Germinación in vitro (GIV); ¹ *: Significativo, NS: no significativo, valor de Probabilidad en paréntesis; ² Letras distintas difieren significativamente al 5%.

	Tinción	GIV
Significancia ¹ de:		
Cultivar (C)	* ($1,05 \times 10^{-3}$)	* ($1,3 \times 10^{-8}$)
Período de almacenamiento (P)	* ($4,57 \times 10^{-4}$)	* ($7,1 \times 10^{-5}$)
C x P	NS (0,8256)	NS (0,279)
Coefficiente de variación (%)	3,2	9
Medias ² (%) y desvíos por Cultivar:		
M56	95,2 ± 1,83 a	89,00 ± 6,84 a
M52	92,7 ± 2,34 b	88,60 ± 5,31 a
Chieftain	89,5 ± 0,82 c	81,13 ± 8,62 b
Medias ² (%) y desvíos por Período de almacenamiento:		
0 (polen fresco)	94,17 ± 3,20 a	91,33 ± 3,04 a
1 semana a 4°C	93,58 ± 3,13 ab	90,88 ± 3,10 a
4 semanas a 4°C	92,42 ± 2,57 bc	86,33 ± 7,52 ab
4 semanas a -20°C	92,00 ± 2,38 c	83,34 ± 7,38 bc
1 año a -20°C	90,17 ± 2,40 d	79,33 ± 9,42 c

La producción de semillas resultante de las polinizaciones con polen almacenado durante un año de los tres cultivares estaminados fue similar a la obtenida usando polen fresco aunque no se detectaron diferencias significativas entre cultivares (Tabla 4). El elevado número de semillas obtenido (alrededor de 1.000 semillas por fruto) se correspondió con un muy buen peso del fruto en general (Tabla 4).

DISCUSIÓN

En el sudeste bonaerense la sincronización de la floración del cultivar femenino Hayward con los cultivares estaminados fue completa solo en una de las tres temporadas. Por lo general, la sincronización de la floración está relacionada con las condiciones climáticas propias de la región, la integral térmica de la temporada (Salinger et al., 1993, Cheng et al., 2006) y el uso eventual de cianamida hidrogenada (McPherson et al., 2001), que no fue evaluada en este trabajo. De hecho, la sincronización de la floración de los tres cultivares estaminados evaluados con respecto al cv. Hayward ha sido completa en las condiciones de Nueva Zelanda (Hopping, 1990; Ferguson et al., 1997) mientras que no ha sido así en las condiciones italianas (Succi et al., 1997). Como consecuencia de este comportamiento reproductivo, Italia debió recurrir a otros cultivares polinizadores como Autari, obtenido por la Universidad de Udine, y P1 y otros cultivares incorrectamente identificados como Tomuri, cuyos períodos de floración coinciden con Hayward en ese país (Testolin & Ferguson, 2009).

La hinchazón de yemas del cv. Hayward para las temporadas evaluadas en la zona se produjo entre el 10 y el 19 de septiembre. La acumulación media de horas de frío en el subperíodo de descanso de frutales criófilos en el sudeste bonaerense varía entre 1000 y 1300 hs en proximidades del mar (Damario & Pascale, 2009). A fin de relacionar la disponibilidad de frío de las temporadas evaluadas con las cartas agroclimáticas

correspondientes, se calculó la sumatoria de horas de frío de los meses más fríos del año, desde principios de mayo hasta finales de septiembre (Pascale & Damario, 2004). La acumulación efectiva de horas de frío fue de 1085 hs en 2012 y de 1250 hs en 2013 (Siga, 2018). Por lo que el atraso de la floración en el año 2013 (Figura 1) no se explica por la acumulación de frío durante la dormancia.

Aunque los efectos directos del enfriamiento invernal sobre la fase de floración son muy relevantes, también debiera considerarse su interacción con las condiciones térmicas desde la hinchazón de yemas hasta la floración (Davison, 1990). En kiwi, según Morley-Bunker & Salinger (1987), la acumulación térmica durante dicho período está relacionada con la variación en el comportamiento reproductivo que se da entre diferentes zonas e incluso diferentes años en una misma zona. De acuerdo a estos investigadores, períodos más cortos se corresponden con temperaturas más elevadas. Según McPherson et al. (1992), la temperatura media del aire explicó 80 % de la variación en la tasa de desarrollo de las flores del cultivar Hayward en dicho período, bajo las condiciones de Nueva Zelanda. En ese país, la suma térmica requerida en el período desde la hinchazón de yemas hasta la plena floración del cultivar Hayward fue de 415°C día (Salinger et al., 1993). En el sudeste bonaerense la suma térmica promedio en el período mencionado, para las tres temporadas, fue de 475±5°C día, considerando una temperatura base de 7°C. A fin de analizar el comportamiento reproductivo observado en el sudeste bonaerense, se calculó la acumulación de grados día en el período en cuestión, a partir de datos provistos por la estación meteorológica de la Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, INTA, y considerando 7° C como temperatura base (Figura 5). La mayor tasa de acumulación térmica en la temporada 2012 (Figura 5) podría ser la causante de la anticipación de la floración con respecto a las otras dos temporadas (Figura 1). De la misma manera, la menor tasa de acumulación térmica registrada en la temporada 2013 (Figura 5) sería responsable del mayor retraso en la floración (Figura 1).

Tabla 4. Número de semillas por fruto y peso de frutos obtenidos a partir de polen fresco y conservado a -20°C; ¹ *: Significativo, NS: no significativo, valor de Probabilidad en paréntesis; ² Letras distintas difieren significativamente al 5%.

	Número de semillas/fruto	Peso del fruto
Significancia ¹ de:		
Cultivar (C)	NS (0,058)	* (0,006)
Período de almacenamiento (P)	NS (0,942)	NS (0,130)
C x P	NS (0,315)	NS (0,476)
Coeficiente de variación (%)	18	9,8
Medias ² (%) y desvíos por Cultivar:		(g)
M56	1104 ± 146	137 ± 9 a
M52	890 ± 51	122 ± 4 b
Chieftain	915 ± 208	118 ± 13 b
Medias ² (%) y desvíos por Período de almacenamiento:		
0 (polen fresco)	973 ± 144	128,9 ± 13,4
12 meses a -20°C	967 ± 206	122,0 ± 10,9

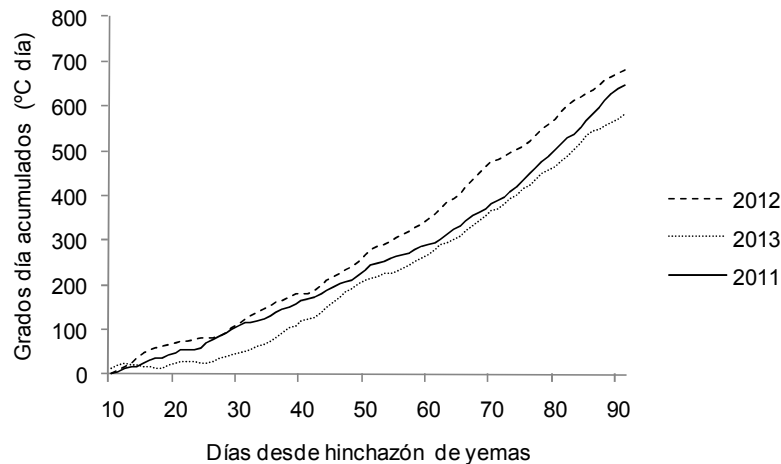


Figura 5. Grados día acumulados en el período comprendido entre hinchazón de yemas y floración en las tres temporadas evaluadas.

El mayor o menor grado de superposición de la floración de los cultivares estaminados con el cv. Hayward podría deberse a que los mismos presenten menores exigencias de frío invernal (Ontivero et al., 1995), y eventualmente, diferente sensibilidad a las condiciones térmicas primaverales (Cheng et al., 2006). Con respecto a las estimaciones de la viabilidad del polen de kiwi, la técnica de Peterson et. al. (2010) permitió diferenciar satisfactoriamente el polen viable del estéril (Figura 2a). Este colorante fue usado exitosamente en 22 especies con la misma eficacia que la tinción con Alexander (1980) pero con reactivos de mucha menor toxicidad. Este es el primer reporte del uso de este colorante en el análisis del polen de kiwi.

Por otro lado, la técnica de GIV basada en las condiciones de germinación del polen ajustadas previamente por nuestro grupo de trabajo (De Brito et al., 2013) permitió obtener resultados confiables. En el medio de germinación, la sacarosa actúa como regulador osmótico entre la superficie del grano de polen y el medio de cultivo, siendo además una fuente de energía para el crecimiento del tubo polínico (Stanley y Linskens, 1974). La concentración de 10% de sacarosa fue establecida como óptima por Borghezán et al. (2011). Según Brewbaker y Kwack (1963), la composición mineral de este medio estimula la germinación del polen. En el caso del kiwi, la suplementación con boro ha permitido obtener mayores porcentajes de germinación (Borghezán et al., 2011; Miaja & Me, 1992; González et al; 1994; Testolin et al., 1997).

La viabilidad del polen de los tres cultivares a lo largo del almacenamiento estuvo, en general, por encima del 80%, valor umbral en la comercialización de polen a nivel internacional (PollenPlus, 2016). Durante un mes el polen se mantuvo en buenas condiciones indistintamente a 4°C o a -20°C. Sin embargo, la viabilidad del polen de Chieftain disminuyó en mayor grado al final del período de conservación a -20°C (Figura 4).

Las estimaciones obtenidas por la técnica de tinción y GIV fueron semejantes, encontrándose una correlación

entre ambas de 0,79. Cabe aclarar que en otras especies esta correlación no siempre es significativa (Dafni & Firmage, 2000) ya que se pueden afectar procesos y estructuras no reveladas por la tinción. En el presente trabajo, los porcentajes de GIV después de un año de almacenamiento del polen continuaron siendo aceptables, a pesar de registrar una disminución de 12 puntos (Tabla 3), por lo cual es razonable suponer que las condiciones de almacenamiento utilizadas no dañaron severamente la integridad de las membranas ni produjeron grandes cambios bioquímicos en el polen (Barnabás & Kovacs, 2005). Los antecedentes sobre la conservación del polen de otros cultivares de kiwi no han mostrado consistencia. Borghezán et al. (2011) reportaron que el polen de los cultivares Matua y Tomuri almacenado a -20°C perdió su viabilidad, desde 70 hasta 40% después de 40 días, llegando a ser nula después de un año; contrariamente, Miaja & Me (1992) determinaron que la viabilidad se mantenía más allá del año de almacenamiento.

Los altos valores de viabilidad por Tinción y GIV observados en los tres cultivares estaminados durante todos los períodos de almacenamiento se correspondieron con el elevado número de semillas obtenidas por fruto. Esto está de acuerdo con lo observado por Hopping (1990), que considera que bajo condiciones ideales y con polen con viabilidad superior al 80%, se necesitan entre 1750 y 1875 granos de polen para fertilizar cada uno de los 1000-1400 óvulos de una flor. Las polinizaciones con polen, tanto fresco como conservado durante un año, provenientes de los tres cultivares resultaron en frutos con peso superior a 118 gramos (Tabla 4), que corresponden a los calibres 25 y 27 (Ministerio de Agroindustria, 2014). Cabe aclarar que los calibres de la serie 20 suelen presentar la mejor cotización en los mercados internacionales (Fresh Plaza, 2014). No obstante, los frutos obtenidos a partir de la polinización con el cultivar M56 tuvieron un peso estadísticamente mayor que el resto, aunque no se correspondió estadísticamente con un número mayor de semillas (Tabla 4). De hecho, la correlación entre número de semillas/fruto y peso/fruto no presentó

un ajuste significativo ($p > 0.05$). Hopping (1990) encontró que la asociación entre el número de semillas y peso del fruto observado en el cultivar Hayward fue lineal y muy elevada, aunque se debe tener en cuenta que en dicho caso se evaluó un amplio rango de pesos de fruto. En el presente caso no se han obtenido frutos con bajo peso, que generalmente se vinculan con un escaso número de semillas, acotándose el rango a los pesos mayores.

CONCLUSIONES

En las plantaciones del sudeste bonaerense:

La curvas de la floración de los cultivares estaminados Chieftain y M56 se solaparon totalmente o se anticiparon a las del cultivar femenino Hayward según el año.

A fin de mejorar la eficiencia de la polinización natural se sugiere contar con más de un cultivar estaminado en cada plantación.

En las plantaciones del sudeste bonaerense en particular, sería conveniente contar con cultivares de floración más tardía, que complementen a los cultivares estaminados evaluados.

Los cultivares estaminados difirieron en la cantidad y calidad del polen producido. El cultivar Chieftain produjo una cantidad sustancialmente mayor de polen aunque su viabilidad fue levemente inferior y cayó a una tasa mayor que el resto durante el almacenamiento.

Los frutos obtenidos a partir de las polinizaciones con polen, tanto fresco como conservado, de los tres cultivares estaminados alcanzaron el tamaño comercial. En los planteos en los que se considera la polinización artificial se puede utilizar polen conservado a:

4°C por un período de hasta un mes si se necesitara complementar la polinización natural

-20°C por un período de seis meses si se quisiera exportar polen en contra-estación

-20°C por un período de un año si se requiriera su utilización en la polinización del año siguiente

Agradecimientos

Este trabajo se realizó con subsidios otorgados por la Universidad Nacional de Mar del Plata.

BIBLIOGRAFÍA

Alexander, M.P. 1980. A versatile stain for pollen fungi, yeast and bacteria. *Stain Technology*. 55(1):13-18.

Atkinson, R.G. & E.A. Macrae. 2007. Kiwifruit. En: *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Transgenic Crops. Pua E.C. & M.R. Davey, Ed. Springer Verlag Berlin Heidelberg. pp. 329- 343.

Barnabas, B. & G. Kovács. 2005. Storage of pollen. En: *Pollen biotechnology for crop production and improvement*. Shivanna K. & V. Sawhney, Ed. Cambridge University Press. pp.293-314.

Borghesan, M., A.D. Clauman, D.A. Steinmacher, M.P. Guerra & A.I. Orth. 2011. *In vitro* viability and preservation of pollen grain of kiwi (*Actinidia chinensis* Var. *deliciosa* (A. Chev.) A. Chev.). *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 11: 338-344.

Brewbaker, J., B. Kwack, 1963. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. *American Journal of Botany* 50:859-865.

Cámara de productores de kiwi de Mar del Plata. 2017. El kiwi. Disponible en: <http://camarakiwi.com.ar>. Último acceso: abril 2017.

Cheng, C.H., A.G. Seal, S.J. Murphy & R.G. Lowe. 2006. Variability and inheritance of flowering time and duration in *Actinidia chinensis* (kiwifruit). *Euphytica* 147:395-402.

Costa, G., R. Testolin & G. Vizzotto. 1993. Kiwifruit pollination: an unbiased estimate of wind and bee contribution. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 21: 189-195.

Dafni A. & D. Firmage. 2000. Pollen viability and longevity: practical, ecological and evolutionary implications. *Plant Systematics and Evolution* 222:113-132.

Damarío E.A. & A.J. Pascale. 2009. Carta de horas de frío 1971-2000 de la Argentina. *Rev. Facultad de Agronomía UBA29*: 55-58.

Davison R.M. 1990. The physiology of the kiwifruit vine. In: Warrington and Weston (eds.); *Kiwifruit: science and management*; Ray Richards, New Zealand; pp. 127-154.

De Brito A., C. Godoy & O. Marcellán. 2013. Viabilidad del polen de kiwi (*Actinidia deliciosa*) y su conservación a bajas temperaturas. *Journal of Basic & Applied Genetics* 24 Suppl. 1: 205.

D'Evoli, L., S. Moscatello, M. Lucarini, A. Aguzzi, P. Gabrielli, S. Proietti, A. Batistelli, S. Famiani, V. Böhm, & Longobardi-Boccia, G. 2015. Nutritional traits and antioxidant capacity of kiwifruit cv. Hayward grown in Italy. *Journal of Food Composition and Analysis* 37: 25-29.

Ferguson A.R. 1999. New Temperate Fruits: *Actinidia chinensis* and *Actinidia deliciosa*. En: *Perspectives on new crops and new uses*. Janick J., Ed. ASHS Press, Alexandria, VA. pp.342-347

Ferguson A.R., A.G. Seal, M.A. McNeilage, L.G. Fraser, C.F. Harvey & R.A. Beatson. 1997. Kiwifruit. En: *Fruit Breeding*. Janick J. & J.N. Moore, Ed. John Wiley & Sons. pp. 371-418.

Fernández M.V., C.E. Piwowarczuk & M.C. Sandoval. 2015. El cancro bacteriano del kiwi. *Revista de Divulgación Técnica Agropecuaria, Agroindustrial y Ambiental Facultad de Ciencias Agrarias. UNLomas deZamora* 2(4): 18-21.

Ferradás Y., M. López, M. Rey & M.V. González. 2014. Programmed cell death in kiwifruit stigmatic arms and its relationship to the effective pollination period and the programic phase. *Annals of Botany* 114: 35-45.

Fresh Plaza. 2014. El kiwi chileno supera el promedio de precios en Europa y Asia respecto a la campaña del 2013. Disponible en: <http://www.apfrutosdelvalle.com.ar/>. Último acceso: diciembre 2016.

Gariglio N.F., R.A. Pilatti, M.A. Fonfría. 2007. Requerimientos ecofisiológicos de los árboles frutales. En: Sozzi G. (ed.); *Árboles frutales: ecofisiología, cultivo y aprovechamiento*; FAUBA; pp. 41-82.

Godoy C. 2007. El kiwi: un ave Fénix. *Visión Rural* 68: 40-42.

Godoy C. & C. Domé. 2013. Relación entre la madurez fisiológica y la madurez comercial de frutos de kiwi

- 'Hayward' producidos en el sudeste de la provincia de Buenos Aires (Argentina). Revista de Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo 45: 311-325.
- Godoy, C., R. Arpaia & J. Tognetti.** 2002. Raleo de frutos en kiwi. Revista de Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo 34: 107-115.
- Godoy, C., C. Domé, A. Martínez, G. Gennari & M.A. Palacio.** 2012. Eficiencia de *Bombus atratus* en la polinización de kiwi. Proceedings of XXXV Congreso Argentino de Horticultura (ASAHO), Corrientes.
- González M.V., M. Coque & M. Herrero.** 1994. Pollinator selection in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). Journal of Horticultural Science 69: 697-702.
- González, M.V., M. Coque & M. Herrero.** 1995. Stigmatic receptivity limits the effective pollination period in kiwifruit. Journal Of the American Society for Horticultural Science 120 (2): 199-202.
- Heslop Harrison, J.** 1979. Aspects of the structure, cytochemistry and germination of the pollen of rye. Annals of Botany, Suppl. 44:1-47.
- Hopping, M.E.** 1990. Floral biology, pollination, and fruit set. En: Kiwifruit: Science and Mangement. Warrington I.J. & G.C. Weston, Ed.; Ray Richards / New Zealand Society for Horticultural Science; pp. 71-96.
- King, M.J. & A.M. Ferguson.** 1991. Collection and use of dry pollen for pollination of kiwifruit. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 19: 385-389.
- Miaja, M.L. & G. Me.** 1992. Viability and Germinability of fresh and stored pollen of *Actinidia deliciosa*. Acta Horticulturae 317:191-196
- McPherson H.G., A.J. Hall & C.J. Stanley.** 1992. The influence of current temperature on the time from budbreak to flowering in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). Journal of Horticultural Science 67: 509-519.
- McPherson H.G., A.C. Richardson, W.P. Snelgar & M.B. Currie.** 2001. Effects of hydrogen cyanamide on budbreak and flowering of kiwifruit (*Actinidia deliciosa* 'Hayward'). New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 29: 277-285.
- Ministerio de Agroindustria.** 2014. Protocolo de calidad para kiwi fresco. Resolución SAGyP N°: 21/2014.
- Morley-Bunker M.J. & M.J. Salinger.** 1987. Kiwifruit development the effect of temperature on bud burst and flowering. Weather and climate 7: 26-30.
- Ontivero M., A.C. Ravelo, R.J. Taborda & R.E. Zanvettor.** 1995. La brotación y la floración del kiwi en función de las temperaturas invierno-primaverales de la región central de Córdoba. Revista Facultad de Agronomía 15: 183-188.
- Pascale A.J., E.A. Damario.** 2004. Bioclimatología agrícola y agroclimatología. FAUBA. 550 pág.
- Peterson, R., J.P. Slovin & CH Chen.** 2010. A simplified method for differential staining of aborted and non-aborted pollen grains. International Journal of Plant Biology 1:66-69.
- PollenPlus.** 2016. Kiwifruit pollination solutions. Disponible en: <http://www.pollenplus.co.nz>. Último acceso: diciembre 2016.
- R Core Team.** 2014. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria. Disponible en: <http://www.R-Project.org>. Última consulta: septiembre 2015.
- Salinger M.J., G.J. Kenny & M.J. Morley-Bunker.** 1993. Climate and kiwifruit cv. Hayward. 1. Influences on development and growth. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 21: 235-245.
- Siga.** 2018. Sistema de información y gestión agrometeorológica INTA.
- Stanley R.G & H.F. Linskens.** 1974. Pollen: biology, biochemistry and management. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York. 307 p.
- Succi F., G. Costa, R. Testolin & G. Cipriani.** 1997. Impollinazione dell'actinidia: una via per migliorare la qualità dei frutti. Rivista di Frutticoltura 5: 39-44.
- Testolin R. & A.R. Ferguson.** 2009. Kiwifruit (*Actinidia* spp.) production and marketing in Italy. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 37: 1-32.
- Testolin, R., G. Cipriani, L. Gotardo & G. Costa.** 1997. Selection and evaluation of late flowering pollinizers in *Actinidia deliciosa*. Acta Horticulturae 444:113-118.
- Tontou R., D. Giovanardi & E. Stefani.** 2014. Pollen as a possible pathway for the dissemination of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidae* and bacterial canker of kiwifruit. Phytopathologia Mediterranea 53: 333-339.
- Vaissiere B.E., G. Rodet, M. Cousin, L. Botella & J-P. Torre.** 1996. Pollination effectiveness of honey bees (Hymenoptera: Apidae) in a kiwi fruit orchard. Journal of Economic Entomology 89: 453-461.